UNIVERSITE DE STRASBOURG FACULTE DE PHARMACIE

ANNÉE 1941-1942 N° 299

Contribution à l'Etude de l'Action de la Résorcine sur quelques Acides Alcools et Acides Ethyléniques Aliphatiques

Applications Analytiques

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 4 juillet 1942
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Strasbourg
(Mention Pharmacie)

par

PESHKËPIA Rushdi

Pharmacien

Examinateurs de la Thèse : M. P. CORDIER, Professeur, Président
M. Y. VOLMAR, Professeur
M. Ch. LAPP, Professeur
} Juges

1942

IMPRIMERIES MONT-LOUIS
57, RUE BLATIN, 57
CLERMONT-FERRAND

UNIVERSITE DE STRASBOURG FACULTE DE PHARMACIE

ANNÉE 1941-1942 N° 299

Contribution à l'Etude de l'Action de la Résorcine sur quelques Acides Alcools et Acides Ethyléniques Aliphatiques

Applications Analytiques

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 4 juillet 1942
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Strasbourg
(Mention Pharmacie)

par

PESHKËPIA Rushdi

Pharmacien

Examinateurs de la Thèse : M. P. CORDIER, Professeur, Président
M. Y. VOLMAR, Professeur
M. Ch. LAPP, Professeur
} Juges

IMPRIMERIES MONT-LOUIS
57, RUE BLATIN, 57
CLERMONT-FERRAND

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION :

MM. A. SARTORY, *Doyen*, C. ✻, I. ✿, C. ❁
VOLMAR, *Assesseur*, ✻, I. ✿
MARANDON, *Secrétaire*, ✻, ❀, ⚗, ✿

DOYEN HONORAIRE :

M. JADIN, O. ✻, I. ✿, ❁

PROFESSEURS :

MM.	A. SARTORY, C. ✻, I. ✿, C. ❁	Bactériologie.
	LAVIALLE, ✻, I. ✿, ❁	Botanique.
	VOLMAR, ✻, I. ✿	Chimie organique.
	GUILLAUME, ✻, ⚗, I. ✿ ❁	Pharmacie galénique.
	LAPP, I. ✿	Chimie analytique.
	CORDIER, ✿	Pharmacie chimique.
	R. SARTORY, ✿, ❁	Matière médicale.

MAITRE DE CONFERENCE :

M. DUQUENOIS ..... Toxicologie.

PROFESSEUR HONORAIRE :

M. JADIN, O. ✻, I. ✿, ❁.

COURS COMPLEMENTAIRES :

MM.	A. SARTORY	Hygiène.
	LAVIALLE	Hydrologie.
	VOLMAR	Chimie minérale.
	GUILLAUME	Zoologie.
	LAPP	Physique.
	PRELOT	Législation et Déontologie.
	CORDIER	Chimie biologique.
	R. SARTORY	Cryptogamie.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES :

MM.	COLLARD, ✻, ❁, I. ✿	Chimie pharmaceutique.
	Mᵉ LALLEMAND, ✿	Chimie et Physique.
	JÆGER	Histoire naturelle.
	LEDOUX	Bactériologie et Parasitologie.

A MA MERE ET A MON PERE :

En témoignage de ma profonde admiration, de mon estime et de mon tendre amour filial, je leur dédie ce travail.

A TOUTE MA FAMILLE :

Avec l'expression de ma tendresse fraternelle.

A mon Maître et Président de Thèse :

Monsieur le Professeur P. CORDIER,

Professeur de Pharmacie Chimique
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Hommage de respectueuse reconnaissance, admiration déférente et parfait dévouement.

A mes Juges :

Monsieur le Professeur Y. VOLMAR,

Professeur de Chimie Générale
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
Membre correspondant de l'Académie de Médecine
Chevalier de la Légion d'Honneur

Monsieur le Professeur Ch. LAPP,

Professeur de Chimie Analytique et de Toxicologie
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Hommage de profonde gratitude.

A mes Amis et à tous ceux qui m'ont souhaité la réussite :

Témoignage de ma reconnaissance et d'une amitié profonde et durable.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543517_0048

INTRODUCTION

De nombreuses méthodes ont été proposées pour la différenciation analytique des principaux acides organiques et en particulier des acides alcools les plus couramment rencontrés dans le régime animal ou végétal : acides tartrique, citrique et malique.

Maints chimistes ont précisé et mis au point différentes techniques dont certaines sont devenues classiques, telles que celles données par l'excellent traité de chimie analytique de Denigés et dont la plupart sont dues à l'auteur lui-même.

Citons parmi les travaux intéressants sur cette question, à côté de ceux de Denigés, ceux de Möhler, de Pinérua, de Pesez.

Ayant à nouveau, sur les conseils de Monsieur le Professeur Cordier, examiné comparativement certaines réactions de l'acide malique, nous avons étudié d'une façon plus approfondie le comportement de cet acide avec la résorcine en présence d'acide sulfurique concentré. Cette question nous a amené à préciser certains points et nous a entraîné à étudier l'action de la résorcine sur les acides : fumarique, maléique, aconitique, tartrique et citrique. En d'autres termes, nous avons étudié l'action de la résorcine sur certains acides alcools et acides éthyléniques.

Le comportement de la résorcine sur l'acide malique pouvait paraître a priori être suffisamment étudié et nous n'avons cherché qu'à concilier du point de vue analytique les faits déjà connus sur cette question dont les plus anciens travaux sont ceux de Von Pechmann relatifs à la formation et à la préparation de l'ombelliferone (1).

Ayant été surpris de constater que les analystes n'aient point fait appel à ces travaux importants de Chimie Organique, nous avons étudié d'une façon systématique l'action de la résorcine en milieu sulfurique sur les acides cités. Ceci nous a amené à considérer que l'action de la résorcine sur l'acide malique donne lieu à deux phénomènes :

a) *Le premier, le plus important, dû à la réaction de Von Pechmann, aboutit à la formation de l'ombelliferone dont l'intensité de fluorescence est bien connue.*

b) *Le deuxième, beaucoup plus faible selon les modalités opératoires, est dû à la formation d'acide maléique ou fumarique et à la réaction de la résorcine sur ces composés avec formation de dérivés de condensation colorés et fluorescents.*

Selon le mode opératoire, la réaction finale est la résultante de ces deux réactions.

Cette étude nous a amené tout naturellement à examiner la différenciation des acides-alcools et des acides éthyléniques. D'autre part, nous avons essayé d'apporter quelques précisions qui nous ont paru devoir être utiles sur l'utilisation de ces différentes réactions en vue de la recherche qualitative de ces composés organiques :

Ce travail est divisé en quatre chapitres :

Premier chapitre. — Bibliographie.

Deuxième chapitre. — Etude de l'action de la résorcine sur les acides-alcools : malique, tartrique et citrique.

Troisième chapitre. — Etude de l'action de la résorcine sur les acides éthyléniques : fumarique, maléique et aconitique.

Quatrième chapitre. — Application de ces réactions pour différencier les acides alcools des acides éthyléniques.

Conclusions.

CHAPITRE PREMIER

BIBLIOGRAPHIE

Avant de commencer l'étude de l'action de la résorcine sur les acides-alcools et les acides éthyléniques, nous avons pensé qu'il serait nécessaire sinon indispensable de réserver une place importante aux excellents travaux de différents auteurs et spécialement aux travaux de Mohler-Denigés et Pesez sur les réactions spécifiques des acides-alcools.

Nous avons complété cette bibliographie par une étude personnelle sur le comportement des réactions de Pinérua, Egriwe et Pesez, sur les acides éthyléniques.

REACTIONS SPECIFIQUES DES ACIDES-ALCOOLS

Réaction spécifique de l'acide tartrique

En 1896, Mohler (2) a montré que l'acide tartrique, après décomposition en milieu sulfurique à une température de plus de 100°, pouvait se condenser avec divers composés phénoliques en donnant des produits colorés de teintes très riches, mais destructibles par l'eau, ne pouvant être séparés du liquide où ils ont pris naissance.

Différents composés phénoliques furent appliqués à la recherche de l'acide tartrique : le B. Naphtol dans la réaction de Pinérua et l'acide Gallique dans celle de E. Egriwe, mais les teintes observées n'ont rien de bien spécifique et leurs sensibilités sont assez faibles.

Réaction de Pinérua (3). — En chauffant graduellement et avec précaution dans une capsule en porcelaine, environ 0 gr. 05 d'acide tartrique ou le résidu d'évaporation de sa

solution avec 10 à 15 gouttes de réactif de Pinérua (solution de 1 gr. de B. Naphtol dans 50 cc d'acide sulfurique concentré), on obtient d'abord une coloration bleue, puis verte passant après refroidissement et addition de 15 à 20 volumes d'eau, au rouge persistant.

Réaction de E. Eegriwe (4). — Si l'on chauffe environ 0 gr. 05 d'acide tartrique avec quelques gouttes (10 à 15) de réactif de E. Eegriwe (acide sulfurique concentré contenant une proportion très faible d'acide gallique), il se produit une coloration bleue qui varie du bleu-vert au jaune-vert, même quand il n'y a eu que des traces d'acide tartrique.

Réaction de Mohler (5). — Si, comme l'a montré l'auteur, on opère la condensation de l'acide tartrique avec la résorcine et non avec un composé phénolique quelconque, on obtient une coloration rouge violacée, cette réaction a été retenue pour sa spécificité et sa sensibilité.

Réaction de Mohler-Denigés (6). — En 1895, G. Denigés modifia la réaction de Mohler en utilisant un réactif moins altérable et la rendit d'un usage courant en analyse.

Pour mettre cette réaction en œuvre, on verse dans un tube à essai 2 cc d'acide sulfurique concentré, 11 gouttes d'une solution de résorcine à 2 % dans de l'eau acidulée par 0 cc 5 % d'acide sulfurique, puis après avoir ajouté 11 gouttes d'une solution tartrique, on chauffe modérément sans dépasser 160°.

A une température d'autant plus élevée que la concentration est plus faible mais qui doit au moins atteindre 100° à 120°, on obtient une coloration variant du rouge-violacée au rose pour les grandes dilutions.

Inconvénients de cette réaction. — M. Pesez, après une étude approfondie de la réaction de Mohler-Denigés, signale que cette réaction ne peut pas toujours permettre de spécifier l'absence de l'acide tartrique dans une solution quand celle-ci donne un résultat négatif. En effet, d'après G. Denigès lui-même, la présence de certains corps peut influencer la réaction et fausser ainsi les résultats.

La coloration propre des chromates et permanganates, les actions oxydantes des nitrites, nitrates, chlorates qui colorent à froid la résorcine en milieu sulfurique, empêchent d'observer la réaction. Pour éliminer ces substances. Denigés conseille d'employer le couple Zn-Cu.

A la suite d'une série de réactions pratiquées en présence de différents composés minéraux, M. Pesez a pu se rendre compte que d'autres substances non citées par Denigés ont une action perturbatrice. C'est ainsi que les persels de fer, les bromures, bromates ,iodures, iodates fournissent des colorations anormales.

La réduction par le couple Zn-Cu ramènera les sels ferriques à l'état de sels ferreux, les bromates et les iodates sont transformés en bromures et iodures, mais si on pratique la réaction en présence de ces derniers, soit préformés, soit provenant d'une réduction, il y a mise en liberté de brôme et d'iode, ce qui rend la réaction impossible à observer. En particulier en présence de bromures et pour une certaine concentration, on obtient la formation d'une magnifique coloration bleue intense. Si la quantité de bromure est trop grande, il se produit un fort dégagement de brôme et la coloration varie du vert-sale au gris-noir.

L'élimination de ces corps étant assez délicate, M. Pesez propose une nouvelle réaction de l'acide tartrique n'ayant pas les inconvénients de la réaction classique de la résorcine et basée sur la coloration bleue obtenue en présence du brôme naissant.

Réaction de Pesez (7). — Le réactif résorcinique de Mohler-Denigés est remplacé par une solution contenant 2 gr. de résorcine et 10 gr. de bromure de potassium pour 100 cc d'eau. Après dissolution, on ajoute 1 cc d'acide sulfurique concentré. Cette solution, tenue en flacons bruns bouchés à l'émeri, se conserve aussi bien que la solution de résorcine de Denigés.

Pour obtenir la réaction, on verse dans un tube à essai 2 cc d'acide sulfurique concentré, on ajoute II gouttes de réactif de Pesez, II gouttes d'une solution d'acide tartrique et on porte au bain-marie bouillant.

Au bout d'une minute pour les concentrations supérieures à 2 % et trois à quatre minutes pour les concentrations extrêmes, on obtient une coloration bleue pâle foncant peu à peu pour devenir d'un beau bleu franc ou bout de cinq minutes. En chauffant avec précaution et à feu nu, on obtient en quelques secondes une coloration extrêmement intense. Si on ajoute ensuite avec précaution 1 cc d'eau distillée, la teinte vire au rouge groseille et l'addition de 10 cc d'eau distillée ne fait pas disparaître cette nouvelle teinte qui pâlit simplement par dilution. Si on neutralise la solution obtenue, on obtient une coloration violacée assez fugace.

L'auteur a d'abord pensé que cette réaction était due à la condensation de l'acide tartrique avec les dérivés bromés de la résorcine. Mais si on remplace le réactif par une solution de tribromo-résorcine sans excès de brome, la réaction est négative, on n'obtient que la coloration violacée de la réaction de Mohler-Denigés. Il semble donc que la réaction doive se faire en présence de brome naissant.

Sensibilité de cette réaction. — Avec 0 gr. 0001 d'acide tartrique dans la prise d'essai, on peut encore obtenir, au bout de cinq minutes à 100°, une coloration bleue pâle très

nette. Pour de plus grandes dilutions, la réaction nécessite une température plus élevée pour obtenir une coloration rose positive qu'il est très délicat de différencier des teintes rouges-bruns qui se produisent à cette température par action de l'acide sulfurique sur les matières organiques. La coloration bleue précédemment obtenue, même lorsqu'elle est très pâle, est au contraire très différente.

Spécificité de la réaction. — L'auteur de cette réaction a essayé de remplacer la résorcine par d'autres corps phénoliques (codéine, naphtol, phénol ordinaire, pyrogalol, gaïacol, thymol, morphine, apomorphine, etc.). Il a pu observer les teintes suivantes :

La codéine donne une coloration vert d'eau.

Le naphtol rouge groseille et les autres corps ont donné des teintes variant du jaune orangé ou rouge brun.

La réaction est donc spécifique de la résorcine et peut servir à la recherche de ce corps. D'autre part, l'auteur a recherché la spécificité de la réaction pour l'acide tartrique. Il a obtenu une coloration brune à chaud avec les acides : oxalique, benzoïque, salicylique, urique, l'antipyrine et le chloroforme. Avec les acides lactique, citrique, l'éthanol, le glycerol et ses produits d'oxydation, il a obtenu une coloration rouge groseille. Le méthanol en solution très diluée a donné à froid une teinte rose avec un précipité de même teinte. En solution plus concentré, la coloration est orangée à froid et rouge foncée à chaud.

Seul le chloral a donné une réaction positive très nette. Cette exception ne constitue pas un grand inconvénient analytique, car, d'après l'auteur, il suffit de chauffer quelques secondes avec une solution de soude pour éliminer le chloral.

Pesez termine cette étude intéressante par la recherche des substances ayant une action perturbatrice sur la réaction.

Les bromures qui troublaient la réaction de Möhler-Denigès n'ont évidemment plus cet inconvénient.

En présence des bromates, nitrites et des sels ferreux, la réaction est encore positive et semble être facilitée. En effet, la présence de ces sels favorise le dégagement de brôme et facilite la condensation.

La réaction est négative avec les hypochlorites (coloration gris-noir), les chlorates (teintes jaune-verdâtre, brun à chaud), les nitrates (teinte rouge-orangée), les permanganates (teinte propre), les iodates (dégagement d'iode) et les chromates (réduction brusque à froid avec virage de la teinte au vert, à chaud l'acide sulfurique brunit fortement).

L'élimination des hypochlorites, chlorates, nitrates et des permanganates se fait par la réduction à l'aide du couple Zn-Cu : à 5 cc de la solution, on ajoute 0 cc 5 d'acide sulfurique, une lame de Zn et quatre à cinq gouttes

de solution saturée de sulfate de cuivre. Au bout de cinq minutes, tout est réduit. Pour les iodates, la réduction donne un dégagement d'iode et après filtration on obtient un liquide légèrement jaune qui donne une réaction positive.

Après réduction, les chlorates donnent une solution verte et la grande sensibilité de la réaction permet une dilution suffisante.

Enfin les iodures doivent être éliminés par précipitation à l'état d'iodures d'argent au moyen d'une solution de nitrate d'argent puis réduction de l'ion NO^3 par le couple Zn-Cu.

En résumé, la réaction de M. Pesez présente l'avantage de donner une teinte très caractéristique et facile à différencier des colorations dues à l'action de l'acide sulfurique à chaud. Elle présente une très grande sensibilité à la température de 100° et permet la recherche de l'acide tartrique même en présence de bromures, de bromates, de nitrites et de sels ferriques.

Réaction de Fentan (8). — A 1 cc d'une solution d'acide tartrique, on ajoute 2 gouttes de solution de sulfate ferreux au quart, 3 gouttes d'eau oxygénée et un grand excès de lessive de potasse. Il se développe une coloration violette intense.

Cette réaction est dûe à la formation d'acide dioxy-maléique COOH—C(OH) = C(OH)—COOH ; par oxydation d'une fonction alcool de l'acide tartrique il y a production d'acide alcool cétonique qui se tautomérise en composé diénolique lequel donne la coloration avec le sel de fer.

Cette réaction peut être rendue quantitative en précisant le mode opératoire et en opérant à 0°. Elle a été préconisée comme moyen de dosage colorimétrique de l'acide tartrique. Sa spécificité est comparable à celles de Mohler-Denigès et de Pesez.

Réactions spécifiques de l'acide citrique

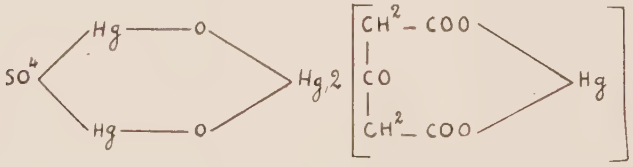
L'acide citrique, par sa fonction alcoolique tertiaire voisine d'un radical carboxyle, peut facilement perdre les éléments de l'acide formique avec formation d'une fonction cétonique. C'est ainsi que, comme l'a montré Von Pechmann, l'acide sulfurique concentré décompose l'acide citrique à chaud en acide acétone dicarbonique et acide formique, ce dernier se détruit au sein même de la solution. en fournissant de l'oxyde de carbone et de l'eau suivant l'équation :

A. Berg et G. Gesler ont appliqué cette réaction à la recherche de l'acide citrique en identifiant l'acide acétone dicarbonique formé soit par $FeCL^3$ (teinte violet rougeâtre), soit par le nitroprussiate de soude (coloration rouge orangée virant au violacée par addition d'acide acétique).

Méthodes basées sur l'oxydation de l'acide citrique. — Parmi les méthodes de caractérisation de l'acide citrique basées sur l'oxydation de cet acide, citons les trois méthodes suivantes : Denigès, Storh et Kogan, dont on trouve la description complète dans un article fort intéressant publié par M. Cattelain dans le *Journal de Pharmacie et de Chimie* de 1931.

Méthode de Denigès (9). *Principe.* — En milieu sulfurique et à chaud, le permanganate de potassium en solution très étendue oxyde le groupement médian peu résistant de la molécule d'acide citrique avec formation d'acide acétone-dicarbonique :

L'acide acétone dicarbonique fournit avec le sulfate mercurique une combinaison blanche insoluble dans l'eau et l'acide sulfurique, soluble dans l'acide chlorhydrique. Cette combinaison est formée par l'union d'une molécule de sulfate basique de mercure avec deux molécules d'acétone dicarbonate de mercure :



Application. — a) *Cas des solutions citriques moyennement concentrées* (1 à 2 %). — On mélange 5 cc de la solution 1 cc de solution acide de sulfate mercurique (5 gr. d'oxyde mercurique dans 20 cc d'acide sulfurique concentré et 100 cc d'eau). On porte à l'ébullition, on retire du feu et on ajoute immédiatement quelques gouttes (5 à 6) de permanganate de potassium en solution aqueuse à 2 % : la liqueur se décolore (sinon ajouter une goutte d'eau oxygénée à 10 ou 12 vol.), puis apparaît un trouble ou un précipité blanc (trouble net à partir de 0,01 %, précipité floconneux à partir de 0,04 %). Ce précipité n'est jamais immédiat, mais apparaît brusquement.

b) *Cas des solutions citriques très étendues.* — On n'ajoute que le dixième de son volume de réactif mercurique et une seule goutte de solution de permanganate de potassium à 2 %.

Présence d'acides formant avec le sulfate mercurique des sels solubles. — En cas de présence de ces acides, on ajoute un excès de réactif mercurique et on filtre après ébullition avant l'addition de permanganate de potassium.

Présence d'acides-alcools (tartrique, malique, lactique). — En raison de leur faible oxydabilité, on ajoute un excès de solution de permanganate de potassium.

Présence de chlorures, bromures ou iodures. — La présence en excès de ces sels gêne la réaction, il convient donc de les éliminer par agitation avec du sulfate d'argent.

Sensibilité. — Cette réaction permet une diagnose absolument certaine de 0,01 % d'acide citrique, non seulement en solution aqueuse simple, mais en présence d'autres acides-alcools. Dans les mêmes conditions, l'acide malique donne de l'acide oxalacétique dont le sel mercurique est facilement soluble dans l'acide sulfurique.

Méthode de Stohre (10). — Plus récemment, Stohre a montré qui si l'on provoquait la formation de l'acide acétone-dicarbonique non plus en présence d'un sel mercurique, mais après addition d'eau de brome, il se formait un précipité blanc de pentabromacétone :

$$COOH-CH^2-CO-CH^2-COOH + 5Br^2 = Br^2-CH-CO-C-Br^3 + 5BrH + 2CO^2$$

Ce précipité a été proposé comme critérium de la recherche de l'acide citrique.

Mode opératoire. — Afin d'éviter une oxydation plus profonde, on utilise une solution très étendue (N/10) de permanganate de potassium. On effectue l'oxydation vers 30 à 40° et on opère le chauffage pendant un temps très court, afin que l'acide acétone-dicarbonique ne puisse être transformé en acétone non susceptible dans ces conditions d'être brômée. Pendant le chauffage, la solution brunit et il se forme un précipité de bioxyde de manganèse. On fait disparaître la coloration et le précipité par addition d'oxalate d'ammonium (1 à 2 gouttes de solution saturée) et d'acide sulfurique (10 %).

L'addition de 5 à 6 gouttes d'eau de brôme saturée fait apparaître le pentabromacétone sous forme d'un trouble ou d'un précipité blanc. L'acétone brômée peut être identifiée d'une façon plus complète soit par agitation du liquide après refroidissement, avec de l'éther, et évaporation du solvant à la température ordinaire dans un verre de montre (formation de longues aiguilles blanches), soit par addition de quelques gouttes de lessive de soude (formation de bromoforme à l'odeur bien caractéristique).

Sensibilité de cette méthode. — On peut, d'après Wohlk, identifier d'une façon certaine à l'aide de cette réaction 0,03 % d'acide citrique. La formation de pentabromacétone a été utilisée par le même auteur pour caractériser cet acide dans le lait de vache, et plus récemment par Bleyer et Schwaibold pour en effectuer le dosage dans le lait de femme. Amberg et Marc Lure l'ont utilisé en 1917 pour montrer la présence normale de cet acide-alcool dans l'urine humaine (0,440 à 0,474 par 24 heures).

Méthode de Kogan (11). — Cette méthode a été inscrite très récemment (1930) par le chimiste russe Kogan.

Principe. — a) En milieu acétique et par ébullition prolongée, le permanganate de potassium en solution étendue (1,5 %) oxyde quantitativement la molécule d'acide citrique avec formation d'acétone d'après l'équation :

$$COOH-CH^2-\underset{\displaystyle COOH}{\overset{\displaystyle OH}{\underset{|}{\overset{|}{C}}}}-CH^2-COOH + O = CH^3-CO-CH^3 + 3CO^2 + OH^2$$

l'acétone provient de la décomposition, par perte de CO^2, de l'acide acétone-dicarbonique, produit immédiat de l'oxydation.

Dans les mêmes conditions, les autres acides-alcools (tartrique, malique et lactique), le glucose, le lactose, la glycérine donnent par oxydation de l'acétaldéhyde.

b) En milieu sulfurique et à froid, le permanganate de potassium en solution concentrée (5 %) oxyde intégralement l'acétaldéhyde avec formation d'acide acétique. Dans les mêmes conditions, l'acétone ne subit aucune oxydation.

c) L'iode en milieu alcalin précipite quantitativement l'acétone à l'état d'iodoforme :

$$CH^3-CO-CH^3 + 3IONa = CH^3COCI^3 + 3NaOH$$
$$CH^3-CO-CI^3 + NaOH = CHI^3 + CH^3COONa$$

Dans les mêmes conditions, alors que l'acétaldéhyde est elle-même intégralement transformée en iodoforme, l'acide acétique ne subit aucune modification.

En résumé, le méthode Kogan consiste essentiellement :

a) A transformer l'acide citrique en acétone.

b) A détruire l'acétaldéhyde qui a pu se former éventuellement par oxydation d'autres composés organiques.

c) A caractériser la formation de l'acétone par la transformation en iodoforme par addition d'iode.

Modes opératoires. — On oxyde l'acide citrique par le permanganate de potassium en milieu acétique, puis on provoque la formation d'iodoforme par addition d'une petite quantité de liqueur d'iode et d'ammoniaque.

Méthode Pesez (12). — Pesez s'est inspiré des travaux de Stohre sur la transformation de l'acide citrique en pentabromacétone et des travaux de Polonowski qui a modifié la méthode de Stohre en prenant pour guide non plus la formation du précipité, mais l'odeur caractéristique des vapeurs de la pentabromacétone. L'auteur a pensé que l'hydrolyse des groupements halogènes conduirait à la formation d'une fonction aldéhydique et d'un carboxyle :

CHO—CO—COOH

Cet acide instable, en présence d'acide sulfurique concentré, perdrait facilement son carboxyle et on obtiendrait finalement du glyoxal :

CHO—CHO

En effet, il a ajouté de l'acide sulfurique à la suspension de pentabromacétone et après distillation il a obtenu un liquide où on identifie la présence de glyoxal par des réactions colorées, son pouvoir réducteur (réaction de Nessler et liqueur de Fehling) et la formation de son osazone.

M. Pesez a appliqué cette dégradation à la recherche de l'acide citrique en utilisant les réactions colorées que donne le glyoxal en milieu sulfurique avec les phénols ainsi qu'avec la codéine.

Remarque. — Pour obtenir une certaine quantité de glyoxal, il est nécessaire d'ajouter la solution citrique à l'acide sulfurique concentré additionné d'eau de brôme et porter à une température d'au moins 100°, le brôme employé seul ne donne pas de résultats satisfaisants.

En utilisant le permanganate de potassium, la transformation en glyoxal est à peu près quantitative.

Réactifs nécessaires. — *a*) Solution contenant 0,50 de BrO^3 K, 1,50 de Brk pour 30 cc d'eau.

b) Solution saturée de M n 0^4 K (1 gr. pour 15 cc d'eau).

c) Eau de brôme saturée.

d) Solution dans l'alcool à 90° des phénols employés.

Modes opératoires. — On met dans un tube à essai 2 gouttes de la solution citrique, 1 goutte d'eau de brôme ou solution de bromate brômurée, et 1 goutte de solution de permanganate de potassium. On chauffe à ébullition sur une très petite flamme. Le liquide se décolore et pour les concentrations supérieures à 2 %, il apparaît un précipité. On ajoute 2 cc d'acide sulfurique et on chauffe légèrement jusqu'à dissolution complète du précipité. On laisse refroidir quelques secondes et on ajoute Occ 10 de solution alcoolique de codéine ou de l'un des phénols.

S'il n'apparaît pas de coloration au bout de quelques secondes de contact, on porte au bain-marie bouillant et on laisse une à deux minutes. Les résultats sont les suivants :

a) Avec la codéine, on obtient à froid une coloration rosée, au bain-marie on a une coloration bleue-violacée assez foncée.

b) Avec la résorcine, la teinte est rose à froid, teinte rouge-bordeaux à chaud avec une légère fluorescence verte.

c) Avec le thymol, pas de coloration à froid, teinte rouge sang à chaud.

d) Avec le B. Naphtol, la coloration est vert très pâle, et après deux minutes de bain-marie devient d'un beau vert émeraude.

f) L'acide salicylique ne donne rien à froid, à chaud on obtient une très belle coloration rouge-violacée qui s'exalte au bain-marie pour devenir d'un beau rouge-violacé intense

Pour les solutions très diluées, il est préférable de faire une prise d'essai de 0 cc 2 (4 gouttes). Si, ayant chauffé après addition de permanganate de potassium, le liquide restait coloré, on doit détruire l'excès de permanganate de potassium par une goutte de solution saturée d'acide oxalique (8 %).

Avec une solution contenant 0,002 dans 0 cc 2 de prise d'essai, on obtient encore au bain-marie les colorations roses positives avec le thymol, l'acide salicylique et surtout son éther méthylique.

Spécificité de la réaction. — Ces réactions sont, d'après l'auteur, spécifiques de l'acide citrique. En effet, les acides lactique, acétique, tartrique, oxalique, benzoïque, salicylique et urique ne donnent à froid qu'une coloration jaune due au dégagement de brôme virant plus ou moins au brun à chaud.

Réactions spécifiques de l'acide malique

Réaction de Pinérua. — Lorsqu'on chauffe lentement et progressivement le mélange de 10 à 25 gouttes de réactif de Pinérua (page 2) et de 0 gr. 05 d'acide malique, on obtient une coloration vert-jaune, puis jaune présentant une belle fluorescence verdâtre. Par addition de 15 à 20 volumes d'eau distillée et après refroidissement, la coloration jaune vire au jaune-orangé.

Réaction de Fentan. — Nous avons constaté personnellement qu'il est possible d'effectuer sur l'acide malique une réaction rappelant celle de Fentan pour l'acide tartrique. Toutefois, cette réaction est, dans ce cas particulier, beaucoup plus délicate à réaliser et beaucoup moins sensible. Nous l'avons pratiquée ainsi : à 1 cc d'une solution d'acide malique, on ajoute 2 gouttes de solution de sulfate ferreux au quart et 3 gouttes d'eau oxygénée et un grand excès de lessive de potasse. Il se développe une coloration rouge-orangée persistante due à la formation de l'acide oxalacétique par l'oxydation de l'acide malique.

Réaction de E. Eegriwe. — Nous avons essayé de voir si l'acide malique donnait après chauffage avec le réactif de E. Eegriwe une coloration propre. Nous avons constaté qu'il se développe une coloration jaune qui vire vers le brun sans doute par décomposition des matières organiques par l'acide sulfurique.

Réaction de Denigés (13). — En ajoutant à une solution, même très étendue d'acide malique ou de malate, le 1/10 de son volume de réactif Denigès (acétate mercurique : solution à chaud de 5 gr. d'acétate mercurique dans un mélange de 100 cc d'eau et 1 cc d'acide acétique), filtrant s'il y a lieu, portant à l'ébullition et ajoutant goutte à goutte une solution de 2 % de permanganate de potassium, on obtient bien vite un précipité blanc d'oxalacétate de mercure provenant de l'oxydation manganique de l'acide malique transformé ainsi en acide oxalacétique qui empruntant Hg à l'acétate mercurique donne une combinaison insoluble.

ETUDE DU COMPORTEMENT DES REACTIFS DE PINERUA EEGRIWE ET PESEZ SUR LES ACIDES ETHYLENIQUES (ACIDE FUMARIQUE, ACIDE MALEIQUE, ACIDE ACONITIQUE)

Nous terminons le chapitre de la bibliographie par une étude personnelle sur le comportement des réactifs de Pinérua, Eegriwe et Pesez sur quelques acides éthyléniques (ac. fumarique, maléique et aconitique).

Après un certain nombre d'essais et après avoir opéré dans les conditions indiquées par les auteurs de ces réactions, nous avons constaté que si la réaction de Pesez est spécifique pour l'acide tartrique et pour la résorcine, il n'en est pas de même des réactions de Pinérua et Eegriwe. Ces réactions sont extrêmement délicates tel que nous le précisons plus bas.

Réaction de Pinérua. — Les acides éthyléniques (ac. fumarique, maléique et aconitique) donnent avec le réactif de Pinérua des teintes bleues virant au vert. Cette teinte est destructible par l'eau et on obtient une solution incolore. Rappelons que, dans les mêmes conditions l'acide tartrique donne les mêmes teintes virant à l'orangée par addition d'eau. Nous pouvons donc constater que la teinte verte est donnée aussi bien par ces acides éthyléniques

que par l'acide tartrique. Le virage à l'orangée par addition d'eau peut déceler la présence de l'acide tartrique, mais il peut laisser soupçonner la présence d'un des trois acides éthyléniques signalés plus haut. Cette réaction est extrêmement délicate, surtout en présence d'autres acides.

Réaction de E. Eegriwe. — Les acides éthyléniques cités donnent des teintes variant du rose au violet qu'il est difficile de distinguer de la teinte bleue donnée par l'acide tartrique.

En résumé nous pouvons conclure que les réactions de Pinérua et Eegriwe ne sont pas spécifiques de l'acide tartrique, les acides éthyléniques tels que les acides maléiques, fumarique et aconitique donnant lieu dans les mêmes conditions à des colorations identiques.

Réaction de Pesez. — Les acides éthyléniques ne donnent que des teintes jaunes dues à la décomposition de ces acides par l'acide sulfurique et au dégagement de brôme.

CHAPITRE II

ETUDE DE L'ACTION DE LA RESORCINE SUR LES ACIDES-ALCOOLS : ACIDE MALIQUE, ACIDE TARTRIQUE ET ACIDE CITRIQUE

Comme nous l'avons signalé dans l'Introduction de notre thèse, l'action de la résorcine sur l'acide malique donne lieu à deux phénomènes bien distincts :

a) Un phénomène de fluorescence en milieu alcalin dû à l'ombelliferone dont la propriété fluorescente bien connue a été en particulier utilisée par M. le Professeur Volmar (14) en analyse, ce composé pouvant être avantageusement employé comme indicateur titrimétrique.

b) Un phénomène de coloration en milieu alcalin dû à la formation d'un composé issu de la condensation de deux molécules de résorcine sur une molécule d'acide fumarique ou d'acide maléique provenant de la déshydratation partielle de l'acide malique.

Au cours de l'exécution de notre travail, nous avons constaté que l'ombelliferone prend naissance quand on opère sur des parties égales d'acide et de résorcine, par contre, la coloration très faible dans ce cas, pour ne pas dire nulle, s'accentue quand on opère sur deux molécules de résorcine et une molécule d'acide.

Cette constatation nous a amené à étudier l'action de la résorcine sur l'acide malique ainsi que sur les autres acides dans les conditions suivantes :

a) Etude de l'action d'une molécule de résorcine sur une molécule d'acide.

b) Etude de l'action de deux molécules de résorcine sur une molécule d'acide.

ETUDE DE L'ACTION DE LA RESORCINE SUR L'ACIDE MALIQUE EN MILIEU SULFURIQUE CONCENTRE

A) ETUDE DE L'ACTION D'UNE MOLECULE DE RESORCINE SUR UNE MOLECULE D'ACIDE MALIQUE

Mode opératoire. — Dans une capsule en porcelaine, on mélange bien une molécule de résorcine, soit (0,110), une molécule d'acide malique, soit (0,134) et deux gouttes d'acide sulfurique concentré.

Avant le chauffage, la masse présente une teinte légèrement verte, due à la coloration de la résorcine par l'acide sulfurique concentré. Cette teinte prend naissance en présence ou en l'absence de l'acide malique ainsi que de tous les autres acides étudiés, elle ne présente donc aucun intérêt.

On chauffe doucement au bain-marie ou au bain de sable de 100 à 120°, température qu'on ne peut dépasser sans risquer de brûler partiellement la masse et de masquer ainsi les propriétés du produit de condensation formée.

Temps de chauffage. — Le temps de chauffage étant d'un intérêt capital, nous avons pensé qu'il serait utile de bien le préciser. En réalité, il ne peut être question d'un temps de chauffage bien défini, celui-ci variant selon le mode de chauffage (bain-marie ou bain de sable) et selon les quantités de résorcine et d'acide malique employées. Néanmoins, certains faits observés au cours de notre travail indiquent jusqu'à un certain point la fin de la réaction.

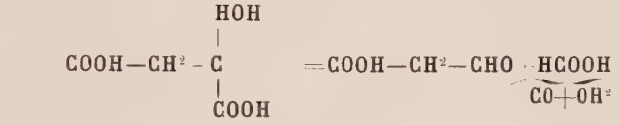
a) Le dégagement gazeux assez tumultueux, observé dès le commencement du chauffage, devient de moins en moins abondant pour disparaître complètement vers la fin de la réaction.

b) La masse de teinte légèrement verte au début vire durant le chauffage du vert pâle au vert-jaune, puis au jaune et finalement au jaune orangé, terme qui indique la fin de la réaction et qu'on ne doit dépasser.

Reprise par l'eau. — La masse jaune orangée ainsi obtenue est reprise par l'eau après refroidissement. On obtient un liquide jaune trouble avec un précipité plus ou moins abondant selon la quantité d'acide sulfurique concentré employé dont un excès faciliterait sa dissolution complète.

Examen du liquide en milieu alcalin. — Le liquide jaune trouble porté en milieu alcalin par addition de quelques gouttes d'alcali (soude, potasse, ammoniaque), présente une belle fluorescence bleue et une coloration rose pâle.

Interprétation des résultats observés. — *a*) Le dégagement gazeux observé durant le chauffage ne peut être que de l'oxyde de carbone dû à la décomposition de l'acide malique par l'acide sulfurique à chaud donnant de l'acide formique qui se détruit au sein même de la solution en fournissant de l'oxyde de carbone et de l'eau suivant l'équation :



b) La fluorescence bleue observée en milieu alcalin est due à la formation de l'ombelliferone tel que nous le précisons plus loin d'après la nature et les propriétés du produit fluorescent isolé.

c) La coloration rose pâle est due à la formation d'une toute petite quantité d'un composé de type maléine-fluorescéine tel que nous le précisons plus loin à propos de l'étude de l'action de deux molécules de résorcine sur une molécule d'acide malique.

Extraction du produit fluorescent. — Pour connaître la nature exacte du produit fluorescent, il nous a paru nécessaire de l'isoler. Deux procédés furent employés dont le rendement est identique :

Premier procédé. — *Principe.* — L'ombelliferone étant en partie soluble dans l'éther, nous avons pensé à utiliser ce solvant pour extraire cette dernière et à l'isoler ainsi après évaporation.

Mode opératoire. — La solution aqueuse d'ombelliferone obtenue après la reprise de la masse par l'eau est mise dans une ampoule à décantation. On ajoute de 10 à 15 cc d'éther. Après avoir bien agité, on décante la solution éthérée et on laisse évaporer.

Outre l'ombelliferone, l'éther entraîne avec lui une partie des impuretés contenues dans la solution aqueuse. Après décantation, la solution éthérée présente une teinte jaunâtre et le produit déposé après l'évaporation est plus ou moins jaune.

Deuxième procédé. — *Principe.* — L'ombelliferone étant très soluble dans l'alcool et peu soluble dans l'eau, nous avons réalisé une solution alcoolique d'ombelliferone et précipité cette dernière par addition d'eau.

Mode opératoire. — La masse jaune orangée obtenue après le chauffage est reprise par de l'alcool à 95° (5 à

10 cc). On obtient un liquide jaune limpide, lequel mis dans un tube à essai et additionné d'eau (5 à 10 cc) laisse déposer le produit fluorescent qui est bien l'ombelliferone, tel que nous le précisons plus loin d'après sa constitution et ses propriétés. On filtre, on lave bien le précipité et on laisse sécher. Le produit ainsi obtenu est plus ou moins pur et de couleur légèrement jaune.

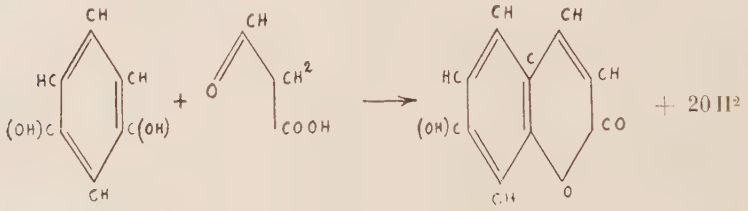
Caractérisation de la chaîne lactonique. — Première opération. — Si l'on chauffe une petite quantité du produit fluorescent isolé en milieu alcalin en excès, la fluorescence s'atténue peu à peu pour disparaître complètement quand on porte la solution à l'ébullition.

Deuxième opération. — La solution alcaline et non fluorescente obtenue après la premiere opération portée en milieu acide par addition d'une quantité suffisante d'acide sulfurique ou d'acide chlorhydrique, est chauffée à nouveau à l'ébullition. Après refroidissement complet, l'addition de quelques gouttes d'alcali fait réapparaître la fluorescence.

Conclusion. — Ces deux opérations nous précisent que le produit fluorescent possède bien une fonction lactone qui est présente dans l'ombelliferone. Cette chaîne lactonique s'ouvre dans la première opération entraînant la disparition de la fluorescence et se referme dans la deuxième opération, permettant ainsi la réapparition de la fluorescence en milieu alcalin.

Propriétés du produit isolé. — Le produit obtenu est fusible à 223-224°. Il est peu soluble dans l'eau à froid, plus soluble dans l'eau bouillante, peu soluble dans l'éther, très soluble dans l'alcool. En milieu alcalin, il présente une belle fluorescence bleue. L'acide sulfurique à froid ne le décompose pas et la solution présente une belle fluorescence bleue.

Toutes ces propriétés correspondent bien à celles de l'ombelliferone que Von Pechmann a longuement étudié et dont la formation s'explique par le processus suivant : l'acide malique chauffé en présence d'acide sulfurique concentré perd les éléments de l'acide formique et le composé résultant se condense en présence de l'acide sulfurique avec la résorcine pour donner l'ombelliferone. La réaction peut être représentée par le schéma suivant :



ETUDE DE L'ACTION DE DEUX MOLECULES DE RESORCINE SUR UNE MOLECULE D'ACIDE MALIQUE

Comme nous l'avons signalé dans l'Introduction de notre thèse, l'action de la résorcine sur l'acide malique donne lieu à un phénomène de coloration qui se superpose à la fluorescence due à l'ombelliferone. Cette coloration est assez faible et son intensité dépend du processus opératoire réalisé. Nous avons constaté, comme nous l'avons indiqué précédemment, qu'elle s'accentue lorsqu'on met en présence d'acide malique deux molécules de résorcine.

Nous avons pensé qu'une petite quantité d'acide malique pouvait subir sous l'influence de l'acide sulfurique concentré une déshydratation avec formation d'acide fumarique ou maléique susceptible de se condenser avec deux molécules de résorcine pour donner un composé coloré en milieu alcalin.

Nous avons donc étudié tout d'abord le processus de formation du produit envisagé à partir de l'acide malique par réaction de 1 molécule d'acide sur 2 molécules de résorcine en présence d'acide sulfurique, nous avons cherché à préciser ultérieurement la nature chimique du produit ainsi obtenu.

L'opération est réalisée comme dans le premier cas, mais en ayant soin d'ajouter un excès de résorcine, soit 2 molécules de résorcine pour une molécule d'acide malique.

Mode opératoire. — Nous nous sommes toujours servi d'une capsule en porcelaine. Après avoir bien mélangé une molécule d'acide malique, soit (0,134) et environ deux molécules de résorcine, soit (0,220), nous avons chauffé dans les mêmes conditions que dans le cas précédent.

Le dégagement gazeux est moins intense que dans le cas précédent. La masse, de teinte légèrement verdâtre avant le chauffage, vire durant le chauffage du vert pâle au vert, au jaune, jaune orangé et finalement au rouge.

Remarque. — La coloration rouge peut être considérée comme le terme indiquant la fin de la réaction et qu'on ne peut dépasser sans risquer d'obtenir des produits de condensation de la résorcine, produits qui se forment d'autant plus que la température est plus élevée et dont la formation peut fausser les résultats.

Examen du liquide en milieu alcalin. — La masse rouge est reprise par de l'eau (5 à 10 cc). On obtient un liquide trouble de couleur jaune-rouge avec un précipité plus ou

moins abondant selon la quantité d'acide sulfurique concentré employée et dont un excès faciliterait la dissolution complète.

Cette solution portée en milieu alcalin par addition de quelques gouttes d'alcali (soude, potasse ou ammoniaque) devient limpide, présente une fluorescence bleue et une coloration rouge intense.

Interprétation des résultats observés. — *a*) Comme dans le cas précédent, le dégagement gazeux est dû à la formation de l'oxyde de carbone provenant de la décomposition de l'acide malique par l'acide sulfurique à chaud.

b) La fluorescence bleue en milieu alcalin est due à la réaction d'une molécule de résorcine sur une molécule d'acide malique, réaction aboutissant à la formation d'une petite quantité d'ombelliferone d'après la réaction examinée dans le cas précédent.

c) La coloration rouge intense en milieu alcalin est due à la formation d'un produit de condensation de deux molécules de résorcine sur une molécule d'acide malique, réaction aboutissant à la formation de la maléine-fluorescéine, tel que nous le précisons plus loin d'après la nature et les propriétés du produit isolé.

Extraction du produit coloré

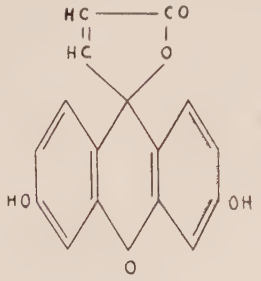
Principe. — Dans le but de séparer le produit obtenu au cours de la réaction, nous avons avantageusement utilisé, après reprise par l'eau, l'action floculante du sulfate d'ammonium à saturation ; le produit précipité, isolé par filtration, lavé avec de l'eau distillée, a été dissous dans de l'alcool et la solution alcoolique obtenue a été évaporée à la température ordinaire.

Mode opératoire. — On reprend la masse brute après refroidissement par quelques cc d'eau, on obtient ainsi un liquide très trouble qui est saturé par addition de sulfate d'ammonium ; au bout de quelques instants, on obtient un précipité jaune-rougeâtre. Le liquide est filtré et le dépôt lavé avec de l'eau distillée est essoré. Il a été repris par quelques cc d'alcool à 95°. La liqueur alcoolique rougeâtre et légèrement fluorescente est abandonnée à l'évaporation dans une capsule. Au bout de 24 à 48 heures, il reste un résidu se présentant sous la forme d'aiguilles jaunes-rougeâtres qu'on a laissé sécher à l'air libre.

Nature du produit. — Les aiguilles jaunes-rougeâtres étant dissoutes dans de l'eau ou mieux dans de l'alcool, on obtient des solutions jaunes présentant une faible fluorescence verte. Ces solutions portées en milieu alcalin par addition de quelques gouttes d'alcali virent du jaune au rouge fuchsine et présentent une belle fluorescence verte.

Propriétés. — Le produit obtenu se décompose sans fondre au-dessus de 240°. Il est peu soluble dans l'eau, très soluble dans l'alcool.

Le produit isolé tel que nous le constatons d'après sa nature et ses propriétés présente des analogies frappantes avec le composé issu de la condensation de l'anhydride maléique et de la résorcine, composé appelé maléine-fluorécéine dont l'étude a été faite par Lunge et Burckhardt (15) et dont la constitution répond au schéma suivant :



Récapitulation. — Nous pouvons récapituler notre travail sur l'étude de l'action de la résorcine sur l'acide malique en milieu sulfurique à chaud par le tableau ci-dessous :

Acide malique... 1 mol. = 0 gr. 134 Résorcine ..... 1 mol. = 0 gr. 110 Acide sulfurique. 2 gouttes.....	*Milieu acide.* — Solution aqueuse trouble avec un précipité plus ou moins abondant et ne présentant pas de fluorescence. *Milieu alcalin.* - Solution aqueuse limpide présentant une belle fluorescence bleue et une faible coloration rose.
Acide malique... 1 mol. = 0 gr. 134 Résorcine ..... 2 mol. = 0 gr. 220 Acide sulfurique. 2 gouttes.....	*Milieu acide.* — Solution aqueuse trouble ne présentant pas de fluorescence. La coloration est jaune-rouge. *Milieu alcalin.* - Solution aqueuse limpide de couleur rouge intense présentant une belle fluorescence bleue.

ETUDE DE L'ACTION DE LA RESORCINE SUR L'ACIDE TARTRIQUE

Remarque. — Etant donné que l'acide tartrique est facilement décomposable par l'acide sulfurique à chaud et que d'autre part un chauffage prolongé de la résorcine en milieu

sulfurique peut donner naissance à un produit de condensation de cette dernière, dont la formation fausserait les résultats, l'étude de l'action de la résorcine sur l'acide tartrique devient délicate.

Mode opératoire. — Nous nous sommes toujours servi d'une capsule en porcelaine. Nous avons opéré dans les mêmes conditions et sur les mêmes proportions que sur l'acide malique en prenant soin de chauffer très doucement au bain-marie. Malgré toutes les précautions, les résultats obtenus n'ont pas toujours été les mêmes, tel que nous le verrons plus loin.

Dans le cas d'une molécule d'acide tartrique et d'une molécule de résorcine, on observe parfois assez nettement la coloration violette de Môlher-Denigès qui vire au rouge. La teinte rouge se détruit par addition de 15 à 20 volumes d'eau et on obtient une solution jaune-verte présentant une fluorescence verte en milieu alcalin. Selon le temps de chauffage, on obtient parfois une solution de teinte légèrement rouge en milieu alcalin.

Dans le cas de deux molécules de résorcine pour une molécule d'acide tartrique, la masse devient subitement rouge-violet par suite de la réaction Môlher-Denigès. Reprise par 15 à 20 volumes d'eau, on obtient une solution limpide jaune-rougeâtre présentant une fluorescence verte en milieu alcalin et une coloration rouge plus ou moins intense selon le temps de chauffage, mais qui est toujours moins intense que la coloration donnée dans les mêmes conditions par les acides éthyléniques tel que nous le verrons plus loin.

Bien que les résultats observés au cours de notre travail n'aient pas été bien caractéristiques, nous pouvons résumer l'étude de l'action de la résorcine sur l'acide tartrique par le tableau suivant :

Acide tartrique.. 1 mol. = 0 gr. 140 Résorcine ..... 1 mol. = 0 gr. 110 Acide sulfurique. 2 gouttes.....	*Milieu acide.* — Solution vert-jaune. *Milieu alcalin.* — Solution vert-jaune ou faiblement rouge présentant une fluorescence verte.
Acide tartrique.. 1 mol. = 0 gr. 140 Résorcine ..... 2 mol. = 0 gr. 220 Acide sulfurique. 2 gouttes.....	*Milieu acide.* — Solution jaune-rougeâtre. *Milieu alcalin.* — Solution plus ou moins rouge présentant une fluorescence verte.

ETUDE DE L'ACTION DE LA RESORCINE SUR L'ACIDE CITRIQUE EN MILIEU SULFURIQUE

Contrairement à l'acide tartrique, l'acide citrique chauffé avec la résorcine en milieu sulfurique donne lieu, comme l'acide malique et les acides éthyléniqus (acide fumarique et acide maléique) à deux phénomènes : *a*) un phénomène de fluorescence en milieu alcalin dû à la formation de la B. Méthyl ombelliferone comme nous le vérifierons plus loin d'après la nature et les propriétés du produit fluorescent isolé ; *b*) un phénomène de coloration en milieu alcalin dû à la formation d'un composé du genre des phtaleines qui s'apparente probablement à la citracofluoresceine dont nous reparlerons plus loin.

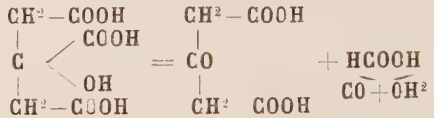
Remarque. — Au cours de l'étude de l'action de la résorcine sur l'acide malique, nous avons signalé que le phénomène de coloration, bien que très faible, prend déjà naissance quand on chauffe cet acide avec la résorcine molécule à molécule. Pour l'acide citrique, il n'en est pas de même. La coloration est nulle quand on le chauffe à parties égales avec la résorcine et elle ne prend naissance qu'en présence d'un excès de résorcine. Cette coloration dans les conditions opératoires réalisées a été toujours moins intense que la coloration obtenue avec l'acide malique et les acides éthyléniques.

A) ETUDE DE L'ACTION D'UNE MOLECULE DE RESORCINE SUR UNE MOLECULE D'ACIDE CITRIQUE EN MILIEU SULFURIQUE

Mode opératoire. — Après avoir bien mélangé, dans une capsule en porcelaine, une molécule d'acide citrique, soit (0,182), une molécule de résorcine, soit (0,110) et deux gouttes d'acide sulfurique concentré, nous avons chauffé dans les mêmes conditions que pour l'acide malique.

La masse, de teinte vert pâle au début, vire au vert-jaune, puis au jaune. Reprise par de l'eau (5 à 10 cc) après refroidissement, on obtient une solution limpide jaune pâle présentant en milieu alcalin une belle fluorescence bleue.

Durant le chauffage, on observe un dégagement gazeux tumultueux dû à la formation de l'oxyde de carbone provenant de la décomposition de l'acide citrique par l'acide sulfurique à chaud. En effet, comme nous l'avons signalé dans la partie bibliographique de notre thèse, l'acide citrique en présence d'acide sulfurique concentré se transforme en acide acétone dicarbonique et en acide formique, ce dernier se détruisant au sein même de la solution pour donner de l'oxyde de carbone et de l'eau d'après l'équation :



Extraction du produit fluorescent. — Pour étudier la nature et les propriétés du produit fluorescent, il était nécessaire de l'isoler. Nous nous sommes servi des deux procédés employés pour l'extraction de l'ombelliferone page . Bien que nous ayons toujours opéré sur de petites quantités, nous avons pu constater encore une fois que le rendement de ces deux procédés est presque identique.

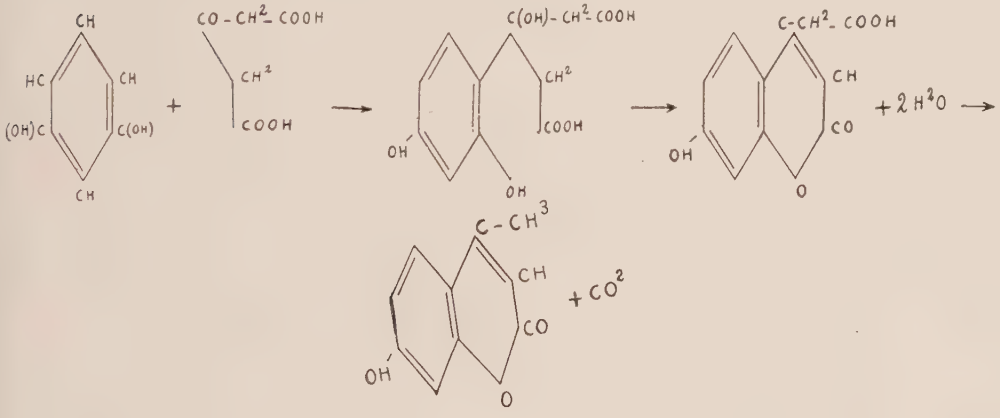
Etude de la nature du produit isolé. — Caractérisation de la fonction lactonique. — Première opération. — Si l'on chauffe une petite quantité du produit fluorescent isolé en milieu acalin en excès, la fluorescence s'atténue peu à peu pour disparaître complètement quand on porte la solution à l'ébullition.

Deuxième opération. — La solution alcaline et non fluorescente obtenue après la première opération portée en milieu acide par addition d'une quantité suffisante d'acide sulfurique ou d'acide chlorhydrique, est chauffée à nouveau à l'ébullition. Après refroidissement complet, l'addition de quelques gouttes d'alcali fait réapparaître la fluorescence.

Conclusion. — Ces deux opérations nous précisent que le produit fluorescent possède bien une fonction lactone présente dans la B. Méthyl-Orbelliferone. Cette chaîne lactonique s'ouvre dans la première opération, entraînant la disparition de la fluorescence, et se referme dans la deuxième opération, permettant ainsi la réapparition de la fluorescence en milieu alcalin.

Propriétés du produit fluorescent isolé. — Son point de fusion pris au bain de mercure est de 184°. Il est peu soluble dans l'eau, peu soluble dans l'éther, très soluble dans l'alcool. Les solutions alcooliques ou aqueuses présentent une belle fluorescence bleue en milieu alcalin et brunissent par addition de quelques gouttes de solution de perchlorure de fer.

La nature et les propriétés du produit isolé correspondent à celles de la B. Méthyl-Ombelliferone dont la formation à partir de l'acide citrique a été longuement étudiée par Wiltenberg (16). Cette formation s'explique bien par le processus suivant : l'acide citrique, en présence d'acide sulfurique à chaud, perd les éléments de l'acide formique pour donner de l'acide acétone-dicarbonique, de l'oxyde de carbone et de l'eau, d'après l'équation page 23. Cet acide cétonique se condense, en présence de l'acide sulfurique, avec la résorcine, avec perte d'eau, pour donner un composé lactonique acide, lequel est instable et par perte d'acide carbonique donne le B. Méthyl-Ombelliferone d'après le schéma suivant :



B) ETUDE DE L'ACTION DE DEUX MOLECULE DE RESORCINE SUR UNE MOLECULE D'ACIDE CITRIQUE

Au cours de l'étude de l'action de la résorcine sur l'acide citrique page 29, nous avons signalé que cet acide chauffé en présence d'acide sulfurique, avec un excès de résorcine, soit deux molécules pour une molécule d'acide citrique, donne lieu à deux phénomènes : *a*) un phénomène de fluorescence dû à la formation de la B. Méthyl-Ombelliferone dont nous avons parlé ; *b*) un phénomène de coloration dû probablement à la formation d'un produit de condensation connu sous le nom de citraco-fluorescéine ou un composé similaire.

Mode opératoire. — Nous avons opéré de la même façon que pour l'acide malique. La masse, de teinte vert-pâle au début, vire au jaune, jaune-orangée et finalement au rouge. Après refroidissement, la masse reprise par l'eau donne une solution jaune ou jaune-orangée présentant une belle fluorescence bleue en milieu alcalin et une coloration rouge plus ou moins intense.

Etude de la nature du produit coloré. — Le peu de produit que nous avons pu isoler par le même procédé que pour la maléine-fluorescéine, page 26, ne nous a pas permis d'étudier sa nature exacte, néanmoins, nous avons pu constater que ses solutions alcooliques présentent en milieu alcalin une fluorescence verdâtre et une coloration rouge. Les mêmes solutions présentent en milieu acide une fluorescence verdâtre et une teinte jaune-brun. La poudre de zinc décolore la solution alcaline, la coloration reparaît par l'action des oxydants très faibles, tel que le ferricyanure de potassium.

Nous pensons que ce produit est probablement de la citracofluoréscéine obtenue par M. J. Hewitt (17) en condensant de l'anhydride citraconique avec la résorcine à chaud, ou un produit similaire issu de la condensation de la résorcine avec un anhydride isomère de l'anhydride citraconique tel que l'anhydride itaconique.

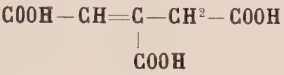
Nous avons pratiqué l'essai suivant : l'acide citrique chauffé dans une capsule se déshydrate pour donner naissance à l'acide aconitique et finalement à un mélange d'anhydrides itaconique et citraconique. Ayant chauffé le résidu avec la résorcine et de l'acide sulfurique, nous avons constaté que le produit repris par l'eau donne une liqueur plus ou moins colorée qui, par addition d'alcali (soude, potasse ou ammoniaque), devient fortement rouge avec apparition d'une belle fluorescence verte. Par acidification, la coloration devient jaune-rouge et la fluorescence s'atténue considérablement au point de disparaître presque complètement. La coloration rouge et la fluorescence verte réapparaissent par alcalinisation.

Nous avons du reste distillé une petite quantité d'acide citrique de façon à obtenir un peu d'anhydride citraconique et effectuer la réaction sur le produit obtenu. La réaction s'est montrée identique.

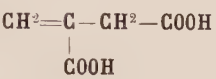
M. le Professeur Cordier ayant préparé de l'acide aconitique, nous avons effectué sur ce corps la réaction résorcinique. On obtient après chauffage un mélange donnant avec l'eau une solution vert-jaune qui devient rouge-sang en milieu alcalin et présente une fluorescence verdâtre.

En résumé, l'action de la résorcine sur l'acide citrique en présence d'acide sulfurique peut être schématisée de la

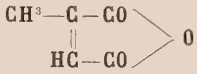
façon suivante : *a*) une forte proportion d'acide citrique subissant la décomposition sous l'action de l'acide sulfurique se dégrade en donnant de l'oxyde de carbone, de l'eau et de l'acide acétone-dicarbonique. Ce dernier se condense avec une molécule de résorcine pour donner la B. Méthyl-Ombelliferone présentant en milieu alcalin une belle fluorescence bleue. Cette réaction est extrêmement sensible. *b*) selon le mode opératoire, en présence surtout d'un excès de résorcine (deux molécules pour une molécule d'acide), une fraction d'acide citrique se dégrade en donnant l'acide aconitique :



puis de l'acide itaconique :



et finalement de l'anhydride itaconique et de l'anhydride citraconique :



qui par condensation sur la résorcine donnent probablement la citracofluoresceine ou un composé similaire.

Comme nous l'avons signalé dans le cas de l'acide citrique, la coloration obtenue comparativement à celles données par l'acide fumarique et l'acide maleique, est toujours faible, la quantité de produit du type citraco-fluorescéine étant très minime dans les conditions opératoires réalisées.

Récapitulation. — Nous pouvons récapituler notre travail sur l'étude de l'action de la résorcine sur l'acide citrique en présence d'acide sulfurique à chaud par le tableau ci-dessous :

Acide citrique.... 1 molécule. Résorcine ..... 1 molécule. Acide sulfurique.. 2 gouttes...	*Milieu acide.* — Coloration jaune ou jaune-orangé. *Milieu alcalin.* — Coloration inchangée ou très faiblement, fluorescence bleue.
Acide citrique.... 1 molécule. Résorcine ..... 2 molécules Acide sulfurique.. 2 gouttes...	*Milieu acide.* — Coloration jaune-rouge. *Milieu alcalin.* — Coloration rouge fluorescence bleue.

CHAPITRE III

ETUDE DE L'ACTION DE LA RESORCINE SUR LES ACIDES ETHYLENIQUES (ACIDES FUMARIQUE, ACIDE MALEIQUE, ACIDE ACONITIQUE)

Les acides fumarique et maleique étant des produits de déshydratation de l'acide malique et d'autre part l'acide aconitique étant un produit de déshydratation de l'acide citrique, nous avons pensé qu'il serait intéressant d'étudier l'action de la résorcine sur ces trois acides. Nous avons opéré dans les mêmes conditions que dans les cas précédents.

A) ETUDE DE L'ACTION DE LA RESORCINE SUR L'ACIDE FUMARIQUE

Ne possédant pas d'acide fumarique, nous l'avons préparé. Plusieurs procédés de préparation sont donnés par différents auteurs. Citons parmi eux, ceux de Michael et Schulthess (18) ; Curtius et Koch (19). Nous nous sommes contenté d'employer le procédé Bayer présentant l'avantage sur les autres d'être simple, demandant un matériel très réduit et d'un rendement appréciable.

Procédé de préparation Bayer (20). — *Principe.* — L'acide malique chauffé vers 150° perd une molécule d'eau et se transforme en acide fumarique d'après l'équation :

$$\begin{matrix} CH^2-COOH \\ | \\ CHOH-COOH \end{matrix} = OH^2 + \begin{matrix} COOH-CH \\ \| \\ CH-COOH \end{matrix}$$

Mode opératoire. — Dans une capsule en porcelaine, on chauffe l'acide malique pendant quarante heures à 140°-150°, le produit commence à se liquéfier pour devenir com-

plètement liquide vers 120°. Le liquide se reprend en masse vers 130°. Durant le chauffage, on doit avoir soin de bien remuer la masse avec un agitateur en verre, afin d'éviter une altération plus prononcée.

Extraction de l'acide fumarique. — Pour isoler l'acide fumarique, il est conseillé de reprendre la masse, obtenue après chauffage de l'acide malique, par de l'eau bouillante, et de laisser cristalliser l'acide fumarique par refroidissement.

Nous avons utilisé le processus suivant : la masse a été reprise par une solution aqueuse de carbonate de sodium. On obtient une solution limpide ou plus ou moins colorée selon le mode de chauffage employé. Cette solution après filtration est additionnée d'un excès de solution d'acide chlorhydrique. L'acide fumarique précipite peu à peu. On filtre, on essore le produit et on laisse sécher.

Etant donné les circonstances, nous avons toujours opéré sur de petites quantités d'acide malique. A plusieurs reprises, nous avons constaté que 5 gr. d'acide malique donnaient 2 gr. 5 à 3 gr. d'acide fumarique plus ou moins pur que nous avons tenu à purifier et à contrôler.

Purification de l'acide fumarique. — Principe. — Suivant les indications de M. le Professeur Cordier, nous avons utilisé avantageusement pour la purification de l'acide fumarique sa propriété d'être très soluble dans l'acide acétique à chaud et très peu soluble à froid.

Mode opératoire. — Dans un vase à précipiter, on met 20 à 25 cc d'acide acétique et l'acide fumarique obtenu. On chauffe jusqu'à dissolution complète. Suivant la couleur de l'acide fumarique, on obtient une solution acétique plus ou moins jaune. On laisse refroidir, l'acide fumarique se dépose peu à peu, le liquide surnageant est jaune, on filtre, on lave le précipité avec de l'acide acétique, on l'essore et on le sèche à l'étuve. Le produit ainsi obtenu est blanc et bien cristallisé.

Contrôle du produit. — Avant de commencer l'étude de l'action de la résorcine sur l'acide fumarique, nous avons tenu à contrôler si notre produit répondait bien aux propriétés de l'acide fumarique.

Point de fusion. — Le produit obtenu se sublime peu à peu sans fondre au-dessus de 240°.

Poids moléculaire. — Nous avons pris son poids moléculaire par alcalimétrie. Pour cela, nous avons pesé exactement à la balance de précision 0 gr. 185 du produit.

Le produit exactement pesé est dissous dans 10 cc d'alcool à 95°, on y a joute 2 gouttes d'une solution alcoolique de phénol-phtaleine. Nous avons tiré avec une solution de soude

N/10 jusqu'à virage de l'indicateur. Pour la quantité pesée, il a fallu 31 cc 80 de solution de soude N/10. L'acide fumarique étant un diacide, son poids moléculaire est donné par l'équation suivante :

$$PM = \frac{20\,000 \times 0{,}185}{31{,}80} = \frac{37\,000}{318} = 116{,}35$$

Théoriquement, le poids moléculaire de l'acide fumarique $C^4H^4O^4$ est 116.

Ces faits nous confirment la structure et la pureté du produit obtenu.

Sûr de la pureté de notre produit, nous avons étudié aussi soigneusement que pour l'acide malique l'action de la résorcine sur l'acide fumarique.

Ainsi que pour l'acide malique, nous avons tenu à étudier le phénomène de fluorescence et le phénomène de coloration. Cette étude nous a amené à opérer exactement dans les mêmes conditions que pour l'acide malique, à savoir :

a) Etude de l'action d'une molécule de résorcine sur une molécule d'acide fumarique.

b) Etude de l'action de deux molécules de résorcine sur une molécule d'acide fumarique.

ETUDE DE L'ACTION D'UNE MOLECULE DE RESORCINE SUR UNE MOLECULE D'ACIDE FUMARIQUE

Après avoir mélangé dans une capsule en porcelaine une molécule de résorcine, soit (0.110), une molécule d'acide fumarique, soit (0,116), et 2 gouttes d'acide sulfurique, on chauffe doucement au bain-marie ou au bain de sable. Signalons qu'il y a intérêt à chauffer à une température supérieure à celle réalisée dans les cas précédents. Les faits suivants permettent de préciser la marche de la réaction.

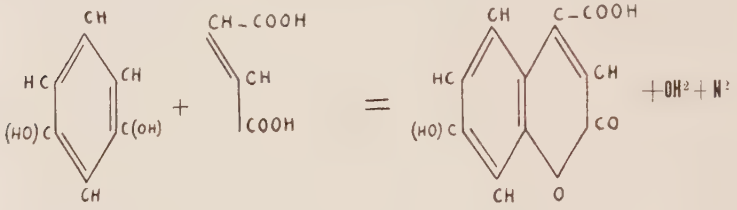
a) Le dégagement gazeux très faible comparativement à celui observé avec l'acide malique cesse rapidemnt.

b) La masse, de teinte vert pâle au début, vire au jaune, au rouge-jaune, et finalement au rouge, terme qui peut servir d'indication de fin de réaction.

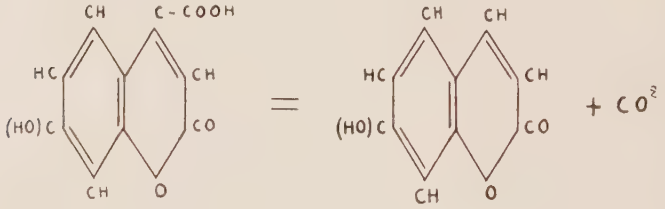
La masse rouge, après refroidissement, reprise par l'eau, donne une solution rouge-orangé. Rappelons que dans les mêmes conditions, l'acide malique et l'acide citrique donnent des solutions jaunes.

Examen du liquide en milieu alcalin. — La solution rouge-orangée en milieu acide présente une belle fluorescence bleue en milieu alcalin et une coloration rouge intense.

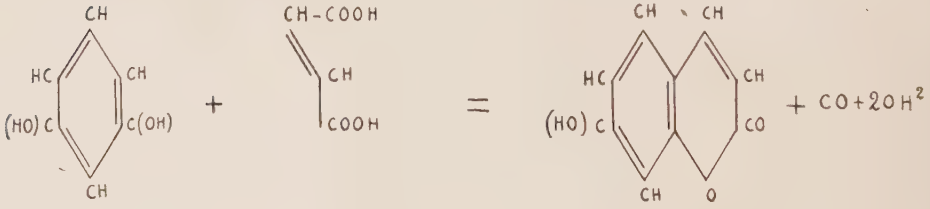
La fluorescence bleue est due probablement à l'ombelliférone ou à un dérivé voisin. Ces corps présentent des fluorescences intenses. La formation de l'ombelliférone peut s'expliquer par le schéma suivant :



Ce produit serait peut-être fluorescent ou capable de donner par départ de CO^2 de l'ombelliférone :



La condensation de la résorcine sur l'acide fumarique avec départ de $CO + OH^2$ peut aboutir à la formation directe de l'ombelliférone d'après le schéma :



b) La coloration rouge intense est due à la formation d'une petite quantité d'un produit de condensation genre maléine fluoresceine ainsi que nous le précisons plus loin d'après sa nature et ses propriétés.

B) ETUDE DE L'ACTION DE DEUX MOLECULES DE RESORCINE SUR UNE MOLECULE D'ACIDE FUMARIQUE

Mode opératoire. — Nous avons opéré dans les mêmes conditions que dans les cas précédents, en ayant soin d'opérer avec un excès de résorcine environ deux molécules pour une molécule d'acide fumarique en présence d'acide sulfurique concentré.

Le chauffage est réglé comme dans les cas précédents, en s'inspirant des faits suivants :

a) Le dégagement gazeux peu abondant cesse rapidement.

b) La masse, de teinte vert pâle au début, vire vers le rouge et finalement elle devient rouge, terme qui peut servir d'indication de fin de réaction.

Examen du liquide en milieu alcalin. — La masse rouge après refroidissement reprise par l'eau, donne une solution rouge présentant en milieu alcalin une belle fluorescence verte et une coloration rouge fuchsine.

Extraction du produit coloré. — Pour extraire le produit coloré, nous avons employé le procédé suivant : la masse obtenue durant la réaction a été reprise par quelques cm^3 d'alcool. On laisse évaporer à l'air libre. Le produit isolé se présente en aiguilles jaunes-rougeâtres, après l'avoir bien essoré sur du papier filtre, on laisse sécher à l'air libre.

Nature et propriétés du produit isolé. — Il se décompose sans fondre au-dessus de 240°. Il est peu soluble dans l'eau, très soluble dans l'alcool. Les solutions alcooliques présentent une teinte vert-jaune en milieu acide et une faible fluorescence vert-jaune. Ces solutions, portées en milieu alcalin par addition de quelques gouttes d'alcali, présentent une belle fluorescence verte et une coloration rouge-fuchsine.

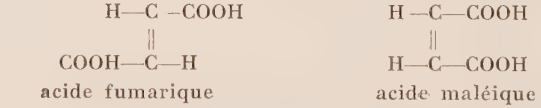
Ce produit issu de la condensation de deux molécules de résorcine et d'une molécule d'acide fumarique, possède des propriétés présentant des analogies frappantes avec la maléine-fluoréscéine, composé obtenu par condensation de deux molécules de résorcine avec une molécule d'anhydride maléique et dont l'étude a été faite, tel que nous l'avons signalé, par Lunge et Burckhard (15).

Récapitulation. — Nous pouvons récapituler notre travail sur l'étude de l'action de la résorcine sur l'acide fumarique par le tableau suivant :

Acide fumarique. 1 mol. = 0 gf. 116 Résorcine ..... 1 mol. = 0 gr. 110 Acide sulfurique. 2 gouttes.....	*Milieu acide.* — Solution aqueuse limpide jaune-rouge ne présentant pas de fluorescence. *Milieu alcalin.* - Solution aqueuse limpide présentant une belle fluorescence bleue et une coloration rouge intense.
Acide fumarique. 1 mol. = 0 gf. 116 Résorcine ..... 2 mol. = 0 gr. 220 Acide sulfurique. 2 gouttes.....	*Milieu acide.* — Solution aqueuse rougeâtre présentant une faible fluorescence vert-jaune. *Milieu alcalin.* - Solution aqueuse présentant une belle fluorescence verte et une coloration rouge-fuchsine.

B) ETUDE DE L'ACTION DE L'ACIDE LA RESORCINE SUR L'ACIDE MALEIQUE

L'acide maléique est, comme l'acide fumarique, un produit de déshydratation de l'acide malique. Il ne diffère de l'acide fumarique que par une isomérie de position, l'acide fumarique représentant l'isomérie cis-trans et l'acide maléique représentant l'isomérie cis, tel que l'indiquent les formules suivantes proposées par Van't Hoff (21) :



acide fumarique — acide maléique

Ayant étudié l'action de la résorcine sur l'acide fumarique, nous avons tenu à compléter cette étude par celle de l'étude maléique. Ne possédant pas d'acide maléique, nous l'avons préparé.

Procédé de préparation. — Aux nombreux procédés de préparation donnés par le dictionnaire de chimie de Wurtz, nous avons préféré le vieux procédé par la distillation sèche de l'acide malique.

Principe. — La distillation sèche de l'acide malique vers 180° conduit par déshydratation à la formation de l'acide maléique et à son anhydride passant avec l'eau dans le distillat, tandis que l'acide fumarique formé se sublime à la partie supérieure du récipient employé.

Mode opératoire. — Nous avons opéré dans une cornue chauffée préalablement au bain de sable vers 180°. Dans la cornue chauffée, on met l'acide malique et on continue à chauffer sans dépasser 180°. L'acide malique devient brusquement liquide et bientôt la distillation commence. Le premier distillat entraîne avec lui la quantité d'eau contenue dans l'acide malique. Il est bon de ne pas le recueillir. Une grande partie du produit se sublime dans la partie supérieure de la cornue constituée par un mélange où domine l'acide fumarique.

Nous avons toujours opéré sur de petites quantités d'acide malique et par ce procédé nous avons pu obtenir, à plusieurs reprises, jusqu'à 0 gr. 50 d'acide maléique à partir de 3 grammes d'acide malique.

Contrôle du produit obtenu. — Avant de commencer l'étude de l'action de la résorcine sur l'acide maléique, nous avons tenu à contrôler si notre produit correspondait bien aux propriétés de l'acide maléique.

Point de fusion. — Son point de fusion pris au bain mercure est de 130 à 131°.

Poids moléculaire. — Nous avons pris son poids moléculaire par le même procédé que le poids moléculaire de l'acide fumarique. Pour 0 gr. 10 d'acide maléique exactement pesé, il a fallu 17 cc 2 de solution de soude N/10. L'acide maléique étant un diacide, son poids moléculaire est donné par la formule suivante :

$$PM = \frac{20.000 \times 0{,}10}{17{,}2} = 116{,}22$$

Le point de fusion de l'acide maléique est 130°, son poids moléculaire théorique $C^4H^4O^4$ est 116.

Ces faits nous confirment la structure et la pureté de l'acide maléique obtenu.

ETUDE DE L'ACTION D'UNE MOLECULE DE RESORCINE SUR UNE MOLECULE D'ACIDE MALEIQUE

Après avoir bien mélangé une molécule d'acide maléique, soit (0 gr. 116), une molécule de résorcine, soit (0 gr. 110) et deux gouttes d'acide sulfurique concentré, on chauffe doucement.

Remarque. — Le mélange d'acide maléique et de résorcine donne à froid une teinte jaune-vert qui s'accentue et vire vers le jaune par addition de 2 gouttes d'acide sulfurique. Cette teinte peut être considérée comme spécifique de l'acide maléique, étant donné que les acides alcools et les

acides éthyléniques (acides fumarique et aconitique) donnent dans les mêmes conditions une teinte vert pâle dûe à la coloration de la résorcine par l'acide sulfurique.

Constatation durant le chauffage. — Le dégagement gazeux est insignifiant. La teinte jaune-vert au début vire rapidement au rouge. Cette nouvelle teinte peut servir de terme de fin de réaction.

Examen du liquide en milieu alcalin. — Après refroidissement, la masse est reprise par l'eau. On obtient une solution trouble contenant un précipité plus ou moins abondant selon la quantité d'acide sulfurique employée. Cette solution portée en milieu alcalin présente une belle fluorescence bleue, qui est due à un dérivé de l'ombelliferone, et une coloration rouge intense due à la formation d'une petite quantité d'un produit de condensation genre maléine-fluoresceine.

ETUDE DE L'ACTION DE DEUX MOLECULES DE RESORCINE SUR UNE MOLECULE D'ACIDE MALEIQUE

En présence d'un excès de résorcine, soit deux molécules (0 gr. 220) pour une molécule d'acide maléique (0 gr. 116), la fluorescence bleue en milieu alcalin disparaît pour céder la place à une fluorescence verte, et la coloration rouge devient extrêmement intense.

Extraction du produit coloré. — Nous avons isolé le produit coloré comme dans le cas du produit obtenu avec l'acide fumarique, page 39.

Propriétés du produit isolé. — Le produit isolé se présente en aiguilles jaune-rouge. Il se décompose au-dessus de 240° sans fondre. Il est peu soluble dans l'eau, très soluble dans l'alcool. Les solutions alcooliques présentent une teinte jaune-rouge et une fluorescence verte. Ces solutions portées en milieu alcalin virent du jaune-rouge au rouge-fuchsine et présentent une fluorescence verte.

Comme nous pouvons le constater, le produit obtenu par la condensation de l'acide maléique avec la résorcine en présence d'acide sulfurique, présente des analogies frappantes avec la maléine-fluoresceine préparée jusqu'ici à notre connaissance par Lunge et Burckard (18) en chauffant une molécule d'anhydride maléique avec deux molécules de résorcine pendant deux heures à 150°.

Récapitulation. — Nous pouvons récapituler l'étude de l'action de la résorcine sur l'acide maléique par le tableau cidessous :

Acide maléique + résorcine + acide sulfurique = coloration jaunâtre à froid	
Acide maléique.. 1 mol. = 0 gr. 116 Résorcine ..... 1 mol. = 0 gr. 110 Acide sulfurique. 2 gouttes.....	*Milieu acide.* — Solution trouble rougeâtre, faible fluorescence vert-jaune. *Milieu alcalin.* — Solution limpide rouge intense, fluorescence bleue.
Acide maléique.. 1 mol. = 0 gr. 116 Résorcine ..... 2 mol. = 0 gr. 220 Acide sulfurique. 2 gouttes.....	*Milieu acide.* — Solution trouble rouge, faible fluorescence vert-jaune. *Milieu alcalin.* — Solution limpide rouge-sang, fluorescence verte.

ETUDE DE L'ACTION DE LA RESORCINE SUR L'ACIDE ACONITIQUE

Comme nous l'avons signalé au cours de l'étude de l'action de la résorcine sur l'acide citrique, l'acide aconitique, produit de déshydratation de l'acide citrique, donne avec la résorcine en milieu sulfurique un produit de condensation présentant une fluorescence verte en milieu alcalin et une coloration rouge sang. La coloration s'intensifie quand on opère en présence d'un excès de résorcine.

ETUDE DE LA ZONE DE VIRAGE DU COMPOSE COLORE OBTENU PAR LA CONDENSATION DES ACIDES MALEIQUE ET FUMARIQUE AVEC LA RESORCINE ESSAI D'APPLICATION A LA DETERMINATION DU PH. URINAIRE

Nous avons montré que les deux composés obtenus par condensation des acides maléique et fumarique avec la résorcine présentaient l'un et l'autre des analogies frappantes avec le composé issu de la réaction de l'anhydride maléique avec la résorcine et appelé maléine-fluoresceine.

Nous avons tenu, en vue de confirmer la similitude de ces deux produits, à examiner leur zone de virage et à vérifier ainsi qu'elle se trouvait absolument identique.

Détermination de la zone de virage. — Nous avons utilisé la méthode préconisée par Ch.-O. Guillaumin (22) et figurant dans les fiches techniques de chimie biologique du Professeur P. Fleury. Cette méthode utilise des solutions tampons obtenues par mélange de solutions de phosphate monopotassique et de phosphate disodique en proportions déterminées et donnant ainsi une échelle de Ph.

Solutions nécessaires :

a) Solution de phosphate monopotassique $PO^4\ KH^2$ M/15 (9,078 par litre).

b) Solution de phosphate disodique $PO^4\ NA^2\ H$ M/15 (23,86 par litre).

c) Solution alcoolique du produit coloré, 0,10 pour 5 cc d'alcool.

Pour déterminer la zone de virage, on construit une gamme en mélangeant des volumes déterminés de solutions de phosphate monopotassique (9,078 %) et de phosphate disodique (23,86 %) de la manière suivante :

Sol. de PO4NA2H	0cc	0cc15	0cc45	0cc85	1cc95	3cc7	6cc3	8cc1
Sol. de PO4KH2	10cc	9cc85	9cc55	9cc15	8cc05	6cc3	3cc7	1cc9
Ph.....	4.6	5	5.4	5.8	6.2	6.6	7.	7.4

On ajoute 2 gouttes du réactif C (0,10 du produit pour 5 cc d'alcool) et de la teinte observée on déduit la zone de virage.

Remarque. — Rappelons que les produits issus de la condensation des acides fumarique et maléique avec la résorcine donnent des solutions jaunes en milieu acide et des solutions roses ou rouges en milieu alcalin.

Après un certain nombre d'essais, nous avons constaté que la gamme ainsi construite présente une coloration jaune pour les Ph 4,6, 5 et 5,4, et une coloration rose qui vire vers le rouge pour les Ph 5,8 6,2, 6,6, 7 et 7,4.

La zone de virage est donc entre les solutions de Ph 5,4 et 5,8.

Nous avons pris soin de comparer les gammes obtenues avec les deux produits colorés : le premier issu de la condensation de l'acide maléique et de la résorcine, et le second issu de la condensation de l'acide fumarique et de la résorcine. Nous avons constaté que la zone de virage est exactement la même. Une troisième gamme construite avec un mélange des deux produits colorés s'est montrée identique.

UTILISATION DU PRODUIT OBTENU POUR LA DETERMINATION DU PH. URINAIRE

Nous avons examiné l'utilisation éventuelle du produit obtenu pour la détermination du Ph. d'un liquide biologique tel que l'urine.

Nous nous sommes inspiré des méthodes antérieures et nous avons utilisé soit l'urine bien limpide si la densité est inférieure à 1.010, soit l'urine diluée au quart ou au cinquième avec de l'eau distillée bien neutre, si la densité de l'urine est supérieure à ce chiffre.

10 cc de cette urine sont additionnés de 2 gouttes de réactif et on compare la teinte avec la gamme construite.

Nous avons constaté que la détermination du Ph. urinaire était réalisable dans les conditions expérimentales où nous nous sommes placé.

TABLEAU GENERAL
DE LA REACTION RESORCINO-SULFURIQUE

ACIDES ALCOOLS

- **AC. TARTRIQUE** Chauffage prononcé
  - *a*) Avec une molécule de résorcine : fluorescence verte.
  - *b*) Avec deux molécules de résorcine : *a*) fluorescence verte; *b*) coloration rouge.
- **AC. CITRIQUE**
  - *a*) Avec une molécule de résorcine : fluorescence bleue : B. Méthyl Ombelliferone.
  - *b*) Avec deux molécules de résorcine: *a*) fluorescence bleue: B. Méthyl Ombelliferone ; *b*) coloration faiblement rouge: citracofluoresceine ou produit similaire.
- **AC. MALIQUE**
  - *a*) Avec une molécule de résorsorcine: *a*) fluorescence bleue: Ombelliferone ; *b*) coloration rose rouge : faible quantité de maléine-fluoresceine.
  - *b*) Avec deux molécules de résorcine: *a*) fluorescence bleue: Ombelliferone ; *b*) coloration rouge : maléine-fluoresceine.
- **AC. FUMARIQUE**
  - *a*) Avec une molécule de résorcine : *a*) fluorescence bleue : Ombelliforme ; *b*) coloration rouge en milieu alcalin : maléine-fluoresceine.
  - *b*) Avec deux molécules de résorcine: *a*) fluorescence verte; *b*) coloration rouge intense : maléine-fluoresceine.

ACIDES ÉTHYLÈNIQUES

- **AC. MALIQUE + RÉSORCINE A FROID : COLORATION VERT-JAUNE**
  - *a*) Avec une molécule de résorsorcine: *a*) fluorescence bleue: Ombelliferone ; *b*) coloration rouge : maléine-fluoresceine.
  - *b*) Avec deux molécules de résorcine: *a*) fluorescence verte; *b*) coloration rouge intense : maléine-fluoresceine.
- **AC. ACONITIQUE**
  - *a*) Avec une molécule de résorcine : *a*) fluorescence vert-jaune ; *b*) coloration rouge : cirtacofluoresceine.
  - *b*) Avec deux molécules de résorcine : *a*) fluorescence vert-jaune ; *b*) coloration rouge intense : citracofluoresceine.

CHAPITRE IV

APPLICATIONS ANALYTIQUES

Nous avons essayé de mettre à profit nos observations en vue d'une application analytique en tenant compte naturellement des nombreux travaux antérieurs et des réactions signalées. Après un certain nombre d'essais, nous avons constaté que la réaction résorcinique peut être employée pour différencier :

a) L'acide citrique de l'acide malique.
b) L'acide maléique de l'acide fumarique.
c) Les acides alcools des acides éthyléniques.

a) *Différenciation de l'acide citrique et de l'acide malique.* — D'après le tableau page 28, nous pouvons constater que l'acide malique se condense avec la résorcine molécule à molécule pour donner un composé plus ou moins coloré en milieu alcalin. Dans les mêmes conditions, l'acide citrique ne donne pas de coloration. En présence d'un excès de résorcine, l'acide citrique donne une coloration rouge faible, alors que l'acide malique dans les mêmes conditions donne une coloration rouge intense.

Remarque. — La différenciation des acides citrique et malique est réalisable en l'absence des acides fumarique et maléique qui donnent des colorations rouges masquant ainsi la coloration donnée par l'acide malique.

Dans le cas d'un mélange d'acide citrique et d'acide malique, la réaction de Denigès peut nous renseigner sur la présence de l'acide citrique.

Différenciation de l'acide fumarique et de l'acide maléique. — Les acides fumarique et maléique donnent naissance avec la résorcine à deux phénomènes identiques pour les deux acides : fluorescence et coloration. Il est extrêmement délicat, sinon impossible, de pouvoir les distinguer par cette réaction, mais l'acide maléique donne à froid avec la résorcine une masse de teinte vert-jaune qui est spécifique de cet acide et qui peut nous permettre de le différencier de l'acide fumarique.

Remarque. — Dans un mélange, la présence de l'acide maléique gêne la recherche de l'acide fumarique, nous conseillons de les séparer par addition d'eau, l'acide maléique étant très soluble dans ce solvant et l'acide fumarique très peu soluble. Si la réaction résorcinique donne avec le résidu non dissous une coloration rouge intense, on peut supposer qu'elle est due à la présence de l'acide fumarique.

Distinction des acides alcools et des acides éthyléniques. — D'après le tableau ci-dessus, les acides alcools (acides maléique et citrique) donnent, en présence d'un excès de résorcine, une fluorescence bleue et une coloration rouge. Dans les mêmes conditions, les acides éthyléniques donnent une fluorescence verte et une coloration rouge fuchsine.

CONCLUSIONS

Nous avons étudié d'une façon systématique l'action de la résorcine sur les acides tartrique, citrique, malique, fumarique et maléique.

Les observations que nous avons faites et que nous avons mentionnées au cours de ce travail nous ont permis de préciser d'une part plusieurs faits antérieurement connus et d'autre part de signaler le comportement plus particulier de chacun de ces acides dans des conditions opératoires déterminées.

Nous avons étudié d'une façon approfondie l'action de l'acide malique sur la résorcine en présence d'acide sulfurique et précisé que d'une façon générale, la réaction donne naissance à deux catégories de composés :

A) Un composé fluorescent en milieu alcalin qui est l'ombelliferone même, dont l'intensité de fluorescence est d'une extrême sensibilité.

B) Un composé coloré en milieu alcalin du type maléine-fluoresceine toujours présent en faible quantité, mais dont la proportion augmente en présence d'un excès de résorcine.

L'étude de l'action de la résorcine sur les acides fumarique et maléique nous a permis de prouver que le corps coloré en milieu alcalin est la maléine-fluoresceine, composé qui n'avait été obtenu à notre connaissance jusqu'ici que par l'action de l'anhydride maléique sur la résorcine. Les propriétés du composé coloré sont les mêmes que celles de ce dernier corps.

Toutefois, nous avons remarqué que les acides maléique et fumarique se condensent à une température plus élevée avec quantité équimoléculaire de résorcine en donnant un composé d'une fluorescence très intense bleue analogue à l'ombelliferone, cette réaction ne se produisant qu'à une température plus élevée que dans le cas de l'acide malique lui-même.

L'acide citrique traité dans les mêmes conditions donne avec une quantité équimoléculaire de résorcine, de la B. Méthyl Ombelliferone d'une belle fluorescence bleue analogue à celle obtenue à partir de l'acide malique.

En présence d'un excès de résorcine (2 mol.), la fluorescence apparaît en milieu alcalin avec une coloration rouge assez faible due probablement à un composé du type citracofluoresceine.

L'acide tartrique donne la réaction de Mohler en milieu sulfurique concentré à chaud. Dans les conditions opératoires réalisées, nous avons obtenu un produit de fluorescence très légèrement verdâtre en milieu alcalin et une très faible coloration.

Nous pouvons donc résumer nos observations, qui ne font du reste que confirmer certains faits antérieurement connus, en disant que les acides-alcools : acide malique et citrique, donnent, par chauffage avec la résorcine en milieu alcalin selon le mode opératoire, deux types de produits :

a) Des composés fluorescents : ombelliferone et B. Méthyl Ombelliferone.

b) Des composés colorés du type des phtaleines colorés en milieu alcalin et de fluorescence vert-jaunâtre : maléine-fluoresceine, citraco-fluoresceine.

La nature des produits obtenus peut permettre, en utilisant également les réactions classiques telles que celles de Mohler et de Denigés, une différenciation de ces différents acides-alcools et des acides éthyléniques (acides fumarique et maléique).

Nous pensons que ce modeste travail permettra d'apporter des faits intéressants et susceptibles, par une étude encore plus approfondie, d'être de quelque utilité dans l'analyse qualitative de ces composés si importants et rencontrés si fréquemment en biologie que sont les acides-alcools tels que les acides tartrique, citrique et malique et les acides éthyléniques tels que fumarique et maléique.

TABLE DES MATIERES

Pages

Introduction 7
Réactions spécifiques de l'acide tartrique..... 8
Réactions spécifiques de l'acide citrique..... 13
Réactions spécifiques de l'acide malique..... 18
Etude du comportement des réactifs de Pinerua, Eegriwe et Pesez sur les acides éthyléniques (fumarique, maléique et aconitique) 19
Etude de l'action de la Résorcine sur les acides-alcools.... 21
Etude de l'action d'une molécule de Résorcine sur une molécule d'acide malique 21
Etude de l'action de deux molécules de Résorcine sur une molécule d'acide malique 25
Etude de l'action de la Résorcine sur l'acide tartrique.... 27
Etude de l'action de la Résorcine sur l'acide citrique.... 29
Etude de l'action de deux molécules de Résorcine sur une molécule d'acide citrique 31
Etude de l'action de la Résorcine sur les acides éthyléniques 35
Etude de l'action d'une molécule de Résorcine sur une molécule d'acide fumarique 37
Etude de l'action de deux molécules de Résorcine sur une molécule d'acide fumarique 39
Etude de l'action d'une molécule de Résorcine sur une molécule d'acide maléique 41
Etude de l'action de deux molécules de Résorcine sur une molécule d'acide maléique 42
Etude de l'action de la Résorcine sur l'acide aconitique... 43
Etude de la zone de virage du composé coloré obtenu par la condensation des acides maléique et fumarique avec la Résorcine 44
Détermination du Ph. urinaire..... 45
Tableau général de la réaction résorcino-sulfurique..... 46
Applications analytiques 47
Conclusions 49
Bibliographie 51

Vu, Clermont-Ferrand, le 4 juin 1942.

Le Président du Jury,

P. CORDIER.

Vu et approuvé :

Clermont-Ferrand, le 8 juin 1942.

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,

A. SARTORY.

Vu et permis d'imprimer :

Clermont-Ferrand, le 11 juin 1942.

Le Recteur de l'Académie,
Président du Conseil de l'Université,

Pour le Recteur,
Le Vice-Président du Conseil de l'Université,

A. DANJON.

BIBLIOGRAPHIE

1. — Pechmann. — *D. Chem. G.*, tome XVII, page 929, année 1884.
2. — Mohler. — *Précis de Chimie Analytique Denigés*, tome I, page 226.
3. — Pinerua. — *Précis de Chimie Analytique Denigés*, tome I, page 238.
4. — E. Egriwe. — *Zeits. Anal. Chem.*, tome LXXXIX, page 121, année 1931 ; *J. P. C.* (8), tome XVIII, page 161, année 1933.
5. — Mohler. — *Précis de Chimie Analytique Denigés*, tome I, page 226 ; *J. P. C.* (8), tome 21, page 542, année 1935.
6. — Mohler Denigès. — *Précis de Chimie Analytique Denigés*, tome I, page 226 ; *J. P. C.* (8), tome XXI, page 542, année 1935.
7. — Pesez. — *J. P. C.* (8), tome XXI, page 542, année 1935.
8. — Fentan, A. K. Anderson et A. M. Rowe et T. V. Letonoff. — *Ind. Engin. Chem. An.*, tome V, page 19, année 1933 ; *J. P. C.* (8), tome XVIII, page 448, année 1933.
9. — Denigès. — Article de Cattelain *J. J. C.* (8), tome XIII, page 436, année 1931 ; *Bull. Soc. Chim.*, tome XXVII, page 13, année 1902.
10. — Stohre. — Article de Cattelain *J. P. C.* (8), tome XIII, page 438, année 1935 ; *Nordisk. Farmaceutisk. Tidskaift*, 1897, tome II, page 141 ; d'après *Zeits F. Anal. Ch,.* 1897, tome XXXVI, page 195.
11. — Kogan. — *A. I. Kogan Zeits. Anal. Chem.*, tome LXXX, page 112, année 1930 ; *C. I.*, tome XXIV, page 560, année 1930 ; *J. P. C.* (8), tome XIII, page 440, année 1931.
12. — Pesez. — *J. P. C.* (8), tome XXII, page 160, année 1935.
13. — Denigès. — *Précis de Chimie Analytique Denigés*, tome I, page 237.
14. — Volmar. — *Bull. Soc. Chim.*, tome XXXXI, page 774, 1927.
15. — Lunge et Burckhardt. — *Bericht*, tome XVII, page 1.598.
16. — Wittenberg. — *Journ. Prakt. Chem* (2), tome XXIV, page 125.
17. — B. J. Hewith. — *Chem. Soc.*, tome LIX, page 301 ; *Bull. Soc. Chim* (3), tome VIII, page 996.
18. — Michael et Schulthess. — *Journ. Prakt. Chem* (2), tome XXXXIII, page 591.
19. — Kurtius et Koch. — *Journ. Prakt. Chem* (2), tome XXXVIII, page 477.
20. — Baeyer. — *D. Chem.*, 6, tome XVIII, page 676 ; *Jungfleisch, Bull. Soc. Chim* (2), tome 30, page 147.
21. — Van't Hoff. — *Dictionnaire de Chimie Wurtz*, 2e supplément, page 352.
22. — Ch. O. Guillaumin. — *Fiches Techniques de Chimie Biologique du Professeur Fleury.*